

ОЦЕНКА КАТАЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ IgG У БОЛЬНЫХ ГНОЙНОЙ ХИРУРГИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИЕЙ

*Моисеева А.М., Булавкин В.П., Конопелько Е.А., Генералов И.И.
УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов
медицинский университет»*

Ферменты патогенности бактерий (оксидоредуктазы, протеазы, нуклеазы) способны играть ведущую роль в развитии патологических инфекционных процессов. За счет своей белковой структуры они обладают выраженной антигенностью: иммунная система человека отвечает на их поступление выработкой широкого спектра антиферментных антител (АТ). Согласно теории «идиотип - антиидиотипических сетей», при этом должны формироваться АТ второго порядка, паратопы которых часто сохраняют конформацию исходного антигена (АГ) [1]. Так как в роли АГ выступает фермент, то такие АТ способны копировать его

структуру и свойства, приобретая таким образом собственную ферментативную (абзимную) активность.

В.К. Окуlichem с соавт. был обнаружен повышенный уровень абзимной активности IgG у больных хирургического профиля [2]. S. Lacroix-Desmazes с соавт. установили положительное влияние протеолитических абзимов на благоприятный исход при сепсисе [3]. Нами ранее было установлено, что IgG, выделенные от больных острыми кишечными инфекциями, способны проявлять оксидоредуктазную и протеолитическую активность.

Таким образом, оценка уровня каталитической активности IgG в крови больных имеет большое значение как для изучения механизмов генерации клональных абзимов, так и для уточнения роли факторов агрессии и инвазии микроорганизмов в развитии местных и системных патологических процессов.

Целью нашего исследования было сравнение уровней оксидоредуктазной, протеолитической и нуклеазной активности IgG у больных с хирургической инфекцией в зависимости от ферментативной активности выделенных микроорганизмов.

Материалы и методы. Все обследованные были разделены на 3 группы (см. таблицу), первую (I) составили пациенты с гнойной хирургической инфекцией, вызванной грамположительной микрофлорой (n=10). Во вторую (II) группу вошли больные с инфекцией, вызванной грамотрицательной микрофлорой (n=9). Третью (III) контрольную группу составили здоровые доноры (n=34).

В I группе у больных был выделен *Staphylococcus aureus* (n=10), во II группе – *Pseudomonas aeruginosa* (n=3), *Escherichia coli* (n=2), *Acinetobacter baumannii* (n=1), *Proteus vulgaris* (n=1), *Proteus mirabilis* (n=1), *Klebsiella pneumoniae* (n=1).

Выделение IgG из крови осуществлялось методом аффинной хроматографии на агарозе, конъюгированной с протеином А золотистого стафилококка, после предварительного осаждения сыворотки 0,75% раствором риванола. До проведения анализов образцы иммуноглобулинов замораживали с последующим хранением при -20°C в холодильнике. Перед постановкой реакции концентрацию белка в пробах доводили до 1 мг/мл 0,9% раствором хлорида натрия [4].

Для приготовления взвеси микроорганизмов использовали штаммы, выращенные на скошенном мясопептонном агаре в течение 18-24 часов (чистая культура). Делали смыв стерильным физиологическим раствором, центрифугировали на 1500 об/мин в течение 30 минут, осадок ресуспендировали в физиологическом растворе, приводили к стандарту мутности в 5 оптических единицы.

Определение каталазной активности АТ и микроорганизмов проводили по модифицированным нами методикам на планшетном колориметре «Мультискан АИФ М340» [5]. Для определения БАПНА-амидазной активности IgG использовали разработанную нами ВЭЖХ методику [4]. БАПНА-амидазную активность микроорганизмов определяли на планшетном колориметре «Мультискан АИФ М340» [2]. ДНКазную активность определяли по уменьшению комплексообразования гидролизованной ДНК с хромогеном риванолом.

Результаты. Нами была изучена каталазная, БАПНА-амидазная и ДНКазная активность IgG сыворотки крови, а также штаммов микроорганизмов, выделенных от больных с различной хирургической патологией. Результаты оценки каталитической активности представлены в таблице.

Таблица – Каталитическая активность IgG и микроорганизмов у больных гнойной хирургической инфекцией

Активность, (M _{cp} , min-max)	I (n=10)		II (n=9)		III (n=34)
	Микроор- ганизмы	IgG	Микроор- ганизмы	IgG	
Каталазная ак- тивность, УЕ	79,60 (24,75-90,54)	11,34 (4,96- 21,88)	86,30 (66,24- 93,99)	21,00 (8,035- 45,11)	2,97 (0-13,45)
БАПНА- амидазная ак- тивность, УЕ	0,052 (0,0098- 0,081)	38,73 (12,6- 81,37)	0,18 (0,0078- 0,85)	195,61 (7,2- 459,84)	7,69 (0-64,5)
ДНКазная ак- тивность, баллы	4,35 (0-5)	0,20 (0-1)	3,39 (0-5)	0,22 (0-1)	0,20 (0-1)

Каталазная и БАПНА-амидазная активность у больных с хирургической инфекцией была достоверно выше, чем в группе доноров. При этом более высокие уровни активности наблюдались во II группе, однако достоверные различия в сравнительном анализе демонстрировала лишь БАПНА-амидазная активность ($p=0,02$). В свою очередь, наибольшие уровни микробной каталазной и протеолитической активности зарегистрированы также во II группе, достоверно выше при этом была каталазная активность ($p=0,04$). ДНК-азная активность у *S.aureus* была более высокой, чем у грамотрицательной флоры, а в препаратах АТ наблюдалась в единичных случаях и была минимальной.

Выводы

1. Препараты IgG, выделенные от больных гнойной хирургической инфекцией, способны проявлять каталазную и протеолитическую активность.
2. Протеолитическая активность АТ достоверно возрастает при патологических процессах, вызванных грамотрицательной микрофлорой.

Литература:

1. Erlanger, B.F. Some thoughts on the structural basis of internal imagery / B.F. Erlanger // Immunol. Today – 1989 – Vol. 10 – N 5. – P. 151-152.
2. Окулич, В.К. Роль факторов агрессии и инвазии микроорганизмов в формировании ферментативной активности IgG, выделенных от больных с хирургической инфекцией / В.К. Окулич, С.А. Сенькович, А.Н. Косинец // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2001. – № 2. – С. 97-103.
3. High levels of catalytic antibodies correlate with favorable outcome in sepsis / S. Lacroix-Desmazes [et al.] // Proc Natl Acad Sci. USA. – 2005. – № 102(11). – P. 4109-4113.
4. Моисеева, А.М. Определение БАПНА-амидазной активности IgG методом ВЭЖХ / А.М. Моисеева, И.И. Генералов, Д.В. Моисеев // Вестник ВГМУ. – 2007. – № 1 – С. 13-18.
5. Методические подходы к определению окислительно-восстановительной активности антител / И.И. Генералов [и др.] // Вестник ВГМУ. – 2005. – № 3. – С. 14-19.